

## **Peran Trehalose Metabolisme Sepanjang Masa Kehidupan Tanaman**

Oleh

**Prapti Sedijani**

Pendidikan Biologi FKIP UNRAM

### **ABSTRAK**

Trehalose/T6P berperan penting bagi tahapan kehidupan tanaman dari tahap embrio, pertumbuhan vegetatif, pertumbuhan generatif, hingga senesensi melalui keterlibatannya dalam menentukan pembelahan sel, bentuk sel, arsitektur tanaman dan respon terhadap stress biotik dan abiotik. Mekanisme trehalose/T6P dalam peran tersebut melibatkan SnRK1 dan bZIP11 dengan mengintegrasikan antara ketersediaan dan penggunaan sumber karbon yang mempengaruhi pemrograman ekspresi gen-gen yang terkait dalam anabolisme dan katabolisme serta gen-gen yang terlibat dalam respon tanaman terhadap stress biotik dan abiotik. Selain itu, protein-protein dalam lintasan metabolisme trehalose diduga terlibat juga dalam pemrograman dan aktivitas enzim-enzim target. Dengan mengetahui peran krusial metabolisme trehalose, manusia dapat memanfaatkan lintasan ini untuk kepentingan pertanian.

### **The Roles of Trehalose Metabolism at Entire Plant Life**

### **ABSTRACT**

Trehalose/T6P has important role at entire plant stage of life starting from embryonic stage, vegetative growth, generative growth and senescence. The roles include cell division, cell shape, plant architecture, and plant responses to biotic and abiotic stress. Synchronizing between energy demand and energy availability is the main mode of the roles through reprogramming of gene expression responsible for anabolism and/or catabolism processes depending on given situation including biotic and abiotic stress. Moreover, proteins of trehalose metabolism are suggested to affect enzyme activity of target proteins. SnRK1 and bZIP11 involve in all those modes. Understanding crucial roles of trehalose metabolism in plant therefore is necessary in order to get benefit from this pathway for agricultural issue.

## PENDAHULUAN

Tumbuhan sebagai makhluk sesil tidak bisa memilih tempat tumbuhnya, oleh karena itu, tanaman harus menghadapi tantangan biotik maupun abiotik dari lingkungannya. Pemahaman mengenai bagaimana tumbuhan menghadapi, beradaptasi dan bertahan hidup adalah menarik untuk dipelajari dan agar dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia dalam dunia pertanian. Salah satu dari mekanisme tersebut melibatkan lintasan metabolisme trehalose.

Trehalose adalah gula sederhana disakarida terdiri atas dua molekul glukosa yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan glikosida - 1-1. Gula ini termasuk dalam gula non reduksi, mempunyai tingkat kemanisan sekitar 45% dibanding sukrosa (Higashiyama, 2002). Bersifat amorphous (tak berbentuk) pada kondisi 100% tanpa air (Hagen, *et. al.*, 1995). Gula ini banyak ditemukan pada organisme tingkat rendah bakteri dan jamur, tanaman tingkat rendah serta pada tanaman yang teradaptasi dengan kehidupan yang keras seperti iklim gurun (Zentella, *et. al.* 1999). Berikut review yang menjelaskan peran trehalose dalam kehidupan tumbuhan, termasuk bertahan menghadapi stress biotik dan abiotik.

## PEMBAHASAN

### 1. Karakter trehalose

Sebagai gula non reduksi, trehalose tidak mudah didegradasi oleh faktor luar kecuali didegradasi secara enzimatis. Konsekuensinya gula ini tidak mudah mengalami perubahan struktur fisika maupun kimianya dalam berbagai kondisi lingkungan dalam rentang yang luas, misalnya terhadap perubahan suhu, pH dan status air (Higashiyama, 2002). Yang unik dari trehalose bukan saja sifat alamiah molekulnya sendiri stabil, tapi juga bersifat

menyetabilkan molekul-molekul yang ada disekitarnya, termasuk molekul biologi (Higashiyama, 2002) misalnya terhadap suhu (Pereira, *et. al.*, 2004; Patist *et. al.*, 2005), garam tinggi (Chang, *et. al.*, 2014) dan oxidative stress (Benarouj, *et. al.*, 2002). Untuk itu trehalose juga dijuluki sebagai biological stabilizing agent atau stress protecting agent (Shinohara, *et. al.*, 2002), menjelaskan bahwa, trehalose adalah gula paling efektif dalam menstabilkan materi biologi (Crowe 2008; Magazù *et. al.*, 2012). Uji kemampuan 6 macam disaccharide dalam melindungi membrane sel, trehalose menunjukkan kemampuan paling tinggi. Pernyataan ini didasarkan atas percobaan dengan menambahkan 1 ml 5% trehalose ke dalam 100 g lipid, direbus selama 24 jam, kemudian volatile pecahan lemak yang terbentuk dianalisis. Lemak volatile yang paling sedikit ditemukan dari larutan lemak dengan trehalose (Higashiyama, 2002). Selanjutnya Higashiyama menjelaskan bahwa trehalose juga mampu mempertahankan sifat alamiah dari materi non biologi, sehingga gula ini sering digunakan untuk memperpanjang masa kadaluarsa makanan.

Kemampuan trehalose dalam mempertahankan sifat alami materi yang ada disekitarnya tidak terlepas dari karakternya sendiri. Dilaporkan ada 3 teori yang mendukung fungsinya sebagai stress protecting agent. Trehalose berperan sebagai water replacement, water entrapment dan glass forming agent. Sebagai water replacement, trehalose mempunyai kemampuan untuk membentuk ikatan hydrogen dengan molekul yang ada disekitarnya (Lefort, *et. al.*, 2007) yang berfungsi sebagai pengganti air. Dengan lipid misalnya, setiap molekul trehalose dapat membentuk hingga delapan ikatan hydrogen dengan minimal 3 molekul lipid (Pereira, *et. al.*, 2004). Sifat ini berkontribusi besar terhadap integritas

membran saat mengalami stres. Stres air misalnya, membran sel akan mengalami perubahan sesuai dengan komposisi unsur penyusun membran. Sebagai bilayer, komposisi anantara membrane luar dan membrane dalam tidak sama, dan komposisi di setiap bagian setiap dari lapisan membrane juga tidak sama. Masing-masing unsur penyusun mempunyai karakter yang berbeda dan merespon berbeda dengan perubahan lingkungan yang sama. Pada saat membran mengalami kekeringan, misalnya, setiap unsur dari membrane tersebut mengalami perubahan bentuk, struktur, derajat kekakuan, sifat kimia dan fisiknya sesuai dengan karakternya masing-masing yang mengakibatkan perubahan fase membrane, dari fase fluid (fase fisiologis) menjadi fase gel yang kaku dan tidak lagi mendukung fungsi fisiologis membrane. Bahkan bisa terjadi pemisahan protein integral membran, robeknya membran, dan fusi antar lapisan membrane, dan atau membrane antar sel (Lenne, *et. al.*, 2007). Dengan adanya trehalose yang mampu memberikan ikatan hydrogen yang sama seperti yang diberikan oleh air, sehingga integritas membrane lebih terjaga dan kerusakan membran dapat dikurangi. Contoh peran trehalose dalam penstabilan materi biologi sangat banyak untuk didaftar, salah satunya asam fosfatidat derivat dari lipid yang terjaga oleh trehalose dari stres kekeringan, garam dan beku (Terterink and Munnik, 2011).

Peran trehalose sebagai water entrapment, trehalose berperan mengumpulkan air (adsorbs). Dengan kemampuannya membentuk ikatan hydrogen dengan materi biologi sekaligus membentuk ikatan hydrogen dengan air, trehalose membentuk lapisan air disekitar materi biologi dan membuat air lebih tersedia bagi proses-proses fisiologinya.

Dalam keadaan beku trehalose membentuk matrik gelas, membuat materi

biologi mendapatkan supot mekanik sebagaimana berada didalam matrik gelas. Support ini menyebabkan materi biologi terjaga struktur alamiahnya saat stress beku oleh suhu dingin. Terjaganya struktur mekanik ini menjaga materi biologi terhindar dari kerusakan strukturnya dan tidak kehilangan fungsi fisiologisnya. Selain itu, trehalose mengurangi kerusakan akibat suhu dingin ini dengan mengurangi derajat kebekuan air sehingga air yang tidak beku lebih tersedia. Peran ini sesuai dengan karakter trehalose sebagai solute pemecah koordinasi struktur tetrahedral dari ikatan hydrogen pada air. Air dalam suhu ruang berbentuk cair karena ikatan hydrogen antar molekul air selalu dinamis antara sambung dan putus. Es terbentuk ketika ikatan hydrogen tetrahedral antar molekul air berlangsung lama tidak putus. Dengan adanya gula ikatan hydrogen tetrahedral menjadi terganggu dan derajat kebekuan berkurang. Diantara gula yang sering digunakan untuk mengurangi es yang terbentuknya, trehalose yang paling tinggi mengurangi terbentuknya es. Sifat ini juga sering diaplikasikan dalam laboratorium untuk menjaga keawetan materi biologi yang disimpan lama dalam beku (cryopreservation). Lee, *et. al.*, 2013 melaporkan bahwa penggunaan 50 mM trehalose dalam cryopreservasi sperma menunjukkan sel viabilitas yang lebih tinggi dibanding menggunakan DMSO. Sel yang dibekukan dalam 200 mM trehalose mempunyai proliferasi lebih tinggi dan apoptosis lebih rendah dibanding sel yang dibekukan dalam DMSO 200 mM.

Sifat-sifat trehalose disebutkan di depan lebih relevan dengan peran trehalose sebagai stress protektant melalui osmotic adjustment yang mana konsentrasi tinggi diperlukan untuk mendukung fungsi tersebut. Biasanya peran ini didemonstrasikan pada organism tingkat rendah dimana trehalose ditemukan dalam

jumlah yang tinggi seperti pada archaea, bakteri, jamur, avertebrata dan tumbuhan teradaptasikan terhadap iklim gurun.

Trehalose juga membantu mengurangi kerusakan dengan berfungsi sebagai chaperon yang membantu mengurangi kerusakan protein setelah mengalami stres. Protein yang mengalami mutasi bisa terbantu pelipatan mendekati normal sehingga mengurangi hilangnya aktivitas. Trehalose juga terlibat dalam meningkatkan ketahanan terhadap biotik stres.

Pada tanaman tingkat tinggi trehalose disintesis dalam jumlah yang sangat sedikit dan dikontrol dengan sangat ketat. Namun demikian, transgenik yang mengekspresikan gen dalam lintasan trehalose metabolisme mempunyai ketahanan terhadap beberapa macam stress (Garg, *et. al.*, 2002, Jang, *et. al.*, 2003, Debast, 2011), peningkatan ini tidak diikuti oleh peningkatan trehalose yang signifikan. Hal ini mengundang pertanyaan bagaimana gen dalam lintasan biosintesis trehalose membuat tanaman menjadi lebih tahan terhadap beberapa macam stress. Mekanisme ini bukan melalui osmotik adjustment seperti pada organisme tingkat rendah atau tanaman gurun, tapi trehalose/T6P berperan sebagai signaling molekul. Paragraf-paragraf dibawah dikumpulkan dari publikasi tentang aspek-aspek yang dipengaruhi oleh gen-gen dalam lintasan metabolisme trehalose dengan pertumbuhan dan perkembangan serta efek metabolisme trehalose dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stres.

## **2. Metabolit trehalose: T6P sebagai neraca ketersediaan dan pengeluaran karbon.**

T6P dilaporkan mempunyai peran sangat penting sejak pembelahan sel (Smeekens, *et. al.*, 2010; Tsai and Gozassarini, 2013) hingga sensasi

(Wingler, *et. al.*, 2012). T6P sebagai substrat trehalose mempunyai peran sebagai integrator antara ketersediaan sumber dan penggunaan karbon. Kandungan T6P pada tanaman meningkat seiring dengan meningkatnya kandungan sucrose (Lunn *et. al.*, 2006; Martinez-Barajas *et. al.*, 2011). Tingginya T6P menginduksi gen-gen terkait dengan pertumbuhan, memacu ekspresi gen anabolisme dan menekan ekspresi gen katabolisme. Tingginya T6P juga menghambat ekspresi gen sucrose nonfermenting related-kinase1 (SnRK1) yang merupakan signal untuk stres dan terinduksi oleh stres terutama stres energi (BaenaGonzález and Sheen, 2008). Akumulasi AMP sebagai akibat dari terpakainya ATP menginduksi ekspresi SnRK1 selanjutnya SnRK1 menekan ekspresi gen terkait anabolisme dan pertumbuhan (Crozet, *et. al.*, 2014). Meningkatnya ekspresi SnRK1 juga mengakibatkan ekspresi gen yang diprogram untuk katabolisme terutama katabolisme protein, antara lain asparagin synthase (Baena Gonzales, *et. al.*, 2007). SnRK1 diperlukan dalam ekspresi gen -amilase pada embryo gandum dan padi saat kekurangan sucrose (Laurie, *et. al.*, 2003; Lu, *et. al.*, 2007) menunjukkan bahwa SnRK1 berperan dalam pemecahan pati saat kelaparan. Overekspresi gene KIN10 (penyandi katalitik unit dari SnRK1) menyebabkan meningkatnya ekspresi 1000 putative gen target KIN10 yang terlibat dalam katabolisme dan menurunnya ekspresi gen yang terlibat dalam anabolisme (BaenaGonzález and Sheen, 2008).

Tingginya T6P juga meningkatkan ekspresi gen yang terkait dengan proses-proses yang memerlukan NADPH (Kolbe, *et. al.*, 2005; Michalska, *et. al.*, 2009), meskipun belum ada bukti yang jelas bahwa NADPH berinteraksi dengan protein *TPS1*; atau *TPS1* mempengaruhi kinerja enzim glukosa 6P dehidrogenase, G6PDH

(Schluepmann, *et. al.*, 2012). Hal ini menegaskan bahwa T6P memacu proses anabolisme. Bila T6P terlalu banyak mengakibatkan berkurangnya stok Glukosa 6 phosphate (G6P), substrat untuk pembentukan NADPH melalui jalur oksidasi pentose pospat dan substrat energi melalui jalur glikolisis yang selanjutnya menghasilkan ATP. Dengan berkurangnya NADPH sebagai energi dalam proses anabolisme dan pertumbuhan, proses tersebut akan melambat. Delatte, *et. al.*, (2011) memaparkan bahwa tingginya T6P tanpa adanya tambahan sumber karbon akan menghabiskan sumber karbon karena penggunaan yang berlebihan, dan karena terhambatnya proses ekspresi gen yang bertanggung jawab untuk proses katabolisme. Sebaliknya bila T6P terlalu sedikit, ekspresi gen SnRK1 meningkat, ekspresi gen anabolisme dihambat oleh SnRK1, sehingga tidak ada pertumbuhan, untuk Arabidopsis terhenti pada tahap terpedo (Schluepmann, *et. al.*, 2003). Dengan demikian, T6P ikut berperan dalam neraca penyalaras antara karbon yang tersedia dan penggunaannya proses-proses yang mendukung pertumbuhan. Proses-proses yang terpengaruh oleh neraca karbon ini antara lain dipaparkan dalam paragraph-paragraf berikut:

### 3. Peran trehalose metabolisme sepanjang kehidupan tanaman

***T6P ikut berperan dalam jaringan meristematis: pembelahan sel, pembentukan dinding sel, dan penentuan arsitektur tanaman***

Pada *Saccharomyces cerevisiae*, trehalose bersama dengan glycogen mempengaruhi siklus sel. Mutant sel yang kehilangan kemampuan mensintesis trehalose membelah dengan kecepatan sama dengan tipe liarnya jika ditumbuhkan pada kondisi sumber energi yang terbatas, namun

jika ditumbuhkan dalam kondisi normal dengan sumber energi yang memadai, mutant sel membelah lebih lambat dibanding tipe liar. Hal ini menunjukkan bahwa trehalose diperlukan untuk proses normal pembelahan sel. Selain itu sel ragi tipe liar bertahan lebih lama dalam medium dengan sumber energi terbatas (Silje, *et. al.*, 1999).

Pada tanaman, T6P dilaporkan berinteraksi dengan protein yang mengatur pembelahan sel, CDKA1 dan Kinesin KCA1 (Smeekens, *et. al.*, 2010) yang mengindikasikan kemungkinan T6P ikut berperan dalam pembelahan sel, dan diduga melalui T6P/SnRK1 dalam mensinkronkan antara energi tersedia dengan penggunaannya seperti siklus sel. Selain itu, UDP-dehydrogenase yang terlibat dalam biosintesis dinding sel sangat terinduksi oleh meningkatnya T6P (Klinghammer and Tenhaken, 2007). Mekanisme persisnya bagaimana T6P berperan dalam semua itu masih dalam penyelidikan (Wang and Yong, 2013), namun ketersediaan sumber carbon mempengaruhi aktivitas meristem dengan mengatur tansisi dari fase G2 ke fase M (Skylar, *et. al.*, (2011) data menunjukkan (Gomez, *et. al.*, 2006) bahwa frekwensi pembelahan sel pada embrio mutan *tps1* hanya setengah dari embrio normal.

T6P berperan dalam determinasi sel meristem. Tingginya T6P merupakan signal adanya sumber energi, sehingga sel meristem pada malai bunga terinduksi untuk membuat cabang baru dan terbentuklah malai dengan jumlah cabang yang banyak (Satoh-Nagasawa *et. al.*, 2006). Apikal dominasi tereduksi oleh overekspresi gen *OtsA* pada Arabidopsis, dan fenotipe sebaliknya dengan overekspresi gen *OtsB* (Schluepmann, *et. al.*, 2003; van Dijken, *et. al.*, 2004). Selain itu TPS6 salah satu family dari gen trehalose synthase berperan dalam morfogenesis seluler (Chary, *et. al.*, 2008). Bukti dari pernyataan tersebut bahwa gen

Trehalose phosphate phosphatase 6 (*TPS6*) dapat mengkomplementasi mutan Arabidopsis pada gen *Cell shape phenotype-1 (csp-1)* yang mengalami perubahan bentuk dan ukuran sel serta percabangan trikoma kembali menjadi normal.

Trehalose terlibat dalam determinasi meristematis sel dengan mengintegrasikan hormon dan sumber karbon. *Ramosa 3* menyandikan Trehalose phosphate phosphatase (TPP) pada jagung (Satoh-Nagasawa, *et. al.*, 2006). Mutant *Ramosa 3, ra3* meningkatkan percabangan pada malai bunga jantan dan bunga betina (Satoh-Nagasawa, *et. al.*, 2006). Mutant tersebut mengalami perubahan tingkat ekspresi gen faktor transkripsi yang terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan dan ekspresi gen yang terlibat dalam sensing dan signaling hormone (Eveland, *et. al.*, 2010). *RA3* mempunyai fungsi yang sama dengan *RA1* dan *RA2*, dan berada disekitar area meristematis. Studi spatiotemporal dan keberadaan *RA1* dalam genom menunjukkan bahwa *RA1* berperan dalam determinasi meristem melalui sintesis dan signaling gibberelin dan auxin, serta dengan berinteraksi dengan protein yang bertanggung jawab terhadap pemeliharaan sel meristem, *KNOTTED1*. *RA1* juga berinteraksi dengan protein yang menentukan identitas meristem bunga, *LEAFY* (Eveland, 2012). Dengan demikian, T6P berperan dalam determinasi sel meristem melalui signaling hormone dan ketersediaan sumber energi.

### ***T6P ikut berperan dalam perkembangan embryo dan fase vegetative***

Terdapat dua fase transisi pada tanaman, yakni transisi dari fase embryo ke fase vegetative (germinasi) dan dari fase vegetative ke fase reproduktif (pembungaan). Dalam fase transisi ini terjadi perubahan ekspresi gen secara masif dan membutuhkan banyak energi. Dalam

proses tersebut juga terjadi remobilisasi serta ketepatan alokasi nutrisi termasuk karbohidrat (Tsai and Gazzarini, 2014). Selama perkembangan embryo, setelah pola sel terbentuk diikuti dengan pematangan embryo yang dimulai dari tahap torpedo. Pada tahap pematangan ini pembelahan sel istirahat, pembesaran sel dan penyimpanan cadangan makanan serta penyiapan dormansi biji dan ketahanan terhadap kurangnya air. Pematangan biji ini diinduksi oleh ABA dan faktor-faktor transkripsi. Konsentrasi ABA paling tinggi dipertengahan perkembangan embryo untuk memacu kematangan embryo dan di akhir untuk mendorong penyimpanan cadangan makanan dan menyiapkan dormansi biji. Pada tahap torpedo, dimana pematangan embryo dimulai, ekspresi gen *TPS1* meningkat (Gutierrez, *et. al.*, 2007; Finkelstein, 2013). Mutant biji Arabidopsis *tps1* pada gen *TPS* mengalami embryo letal (Eastmond, *et. al.*, 2002). Kondisi ini dapat diperbaiki dengan komplementasi *TPS* dari *E.coli* yang mengindikasikan bahwa T6P sangat krusial bagi perkembangan embryo (Schluepmann, *et. al.*, 2004). Studi anatomi, fisiologi dan ekspresi gen yang dilakukan oleh Gomez, *et. al.*, (2006b) dan Gomez, *et. al.*, (2010) menunjukkan bahwa *TPS1* diperlukan dalam proses penyimpanan cadangan makanan. Sintesis pati misalnya, T6P mengaktifkan enzim adenosine-5 -diphosphoglucose pyrophosphorylase (AGPase) melalui aktivasi post translasi untuk mensintesis pati (Kolbe *et. al.*, 2005).

T6P juga diperlukan pada tahap pertumbuhan vegetative tanaman. Eastmond *et. al.*, (2002) membuat tanaman transgenik mutan *tps1* yang dikomplementasikan dengan gen *TPS* dengan promoter yang dapat diinduksi oleh dexamethazone. Pada saat di induksi dengan hormon tersebut, tanaman tumbuh normal, namun pertumbuhan terganggu saat dexamethazone

tidak tersedia. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi gen *TPS1* sangat penting untuk pertumbuhan vegetatif tanaman. Tanaman yang dimutasikan agar mempunyai alel lemah mengalami pertumbuhan yang terhambat dibanding dengan tipe liarnya (Gómez *et. al.*, 2010). Demikian juga dengan tanaman transgenik yang mengekspresikan gen penyandi enzim pendegradasi T6P, Trehalose phosphate phosphatase (TPP) dan Trehalose phosphate hydrolase (TPH), mengalami pertumbuhan yang lambat (Schluepmann, *et. al.*, 2003). T6P mempengaruhi pembentukan dinding sel yang nantinya mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Gomez, *et.al.*, 2006a). Dengan demikian jelas bahwa T6P tidak bisa diabaikan perannya dalam pertumbuhan tanaman fase embrio maupun fase vegetatif.

#### ***T6P ikut berperan dalam pembungaan, alokasi sumber energi and arsitektur tanaman***

Ekspresi gen *OtsB* dari *E.coli* yang mengkode enzim pemecah T6P mengakibatkan penundaan waktu pembungaan, sebaliknya ekspresi *OtsA* menyebabkan pembungaan lebih awal (Schluepmann, *et. al.*, 2003; Wahl *et. al.*, 2013). *FLOWERING LOCUS T (FT)* disintesis di daun dan berpindah ke Shoot apical meristem (SAM) untuk memicu pembungaan yang diinduksi oleh fotoperiod. Ekspresi *FT* pada tanaman yang didesain untuk rendah T6P juga rendah, bahkan hampir tidak ada ekspresi pada tanaman mutan *tps1*, dan kembali normal jika mutan *tps1* di transformasi lagi dengan *TPS1* (Wahl, 2013). Sejalan dengan ini, waktu pembungaan dihambat oleh SnRK1, dimana SnRK1 dihambat oleh T6P. *FLOWERING LOCUS C (FLC)* adalah repressor pembungaan. Absisic Acid Insensitif mutant 5 (*ABI5*) menghambat pembungaan dengan menginduksi ekspresi

gen *FLC*. *ABI5* secara invitro diposporilasi oleh SnRK1. Sedang SnRK1 dihambat oleh T6P. Dengan demikian, *ABI5* mengintegrasikan antara hormone dan signal sumber energi untuk mengatur pembungaan.

Kandungan T6P pada Arabidopsis berkorelasi dengan konsentrasi sukrosa pada saat perkembangan biji. Pada fase pengisian biji, konsentrasi T6P mencapai 100x melebihi konsentrasi T6P diluar fase pengisian biji pada gandum (Martínez-Barajas, *et. al.*, 2011). Demikian juga dengan gen *TPS1* secara konsisten diekspresikan dalam jumlah yang tinggi sepanjang fase pengisian biji. Namun 10 hari setelah anthesis, konsentrasi T6P sangat kecil (Zang, *et.al.*, 2011). Berkaitan dengan alokasi karbon, SnRK1 dihambat oleh T6P pada umbi kentang yang sedang tumbuh (Debast, *et. al.*, 2011) dan pada masa penyimpanan gula tanaman tebu (Wu and Birch, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa T6P terlibat dalam alokasi sumber karbon saat penyimpanan cadangan makanan.

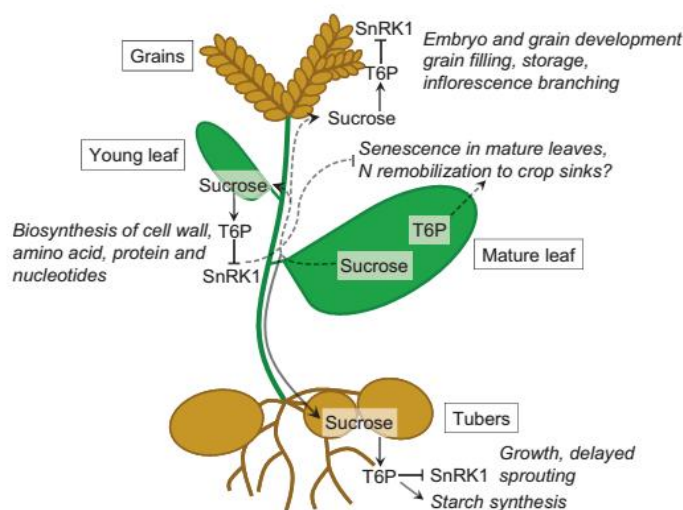
Sebagaimana disebut diatas bahwa T6P bekerja dalam jaringan meristematis, dan menentukan arsitektur dari jaringan/organ, peran ini juga terlihat pada jaringan meristematis bunga. Satoh-Nagasawa *et. al.*, (2006) melaporkan bahwa mutasi pada gen yang mempunyai aktifitas TPP, *ramose3 (RA3)* menunjukkan percabangan yang tidak normal pada bunga jagung baik pada bunga jantan maupun pada bunga betina. Sejalan yang telah dikemukakan didepan, *TPS6* yang diketahui tidak berfungsi aktif (Ramon, *et. al.*, 2009), terlibat dalam determinasi sel meristem (Chary, *et. al.*, 2008), mengindikasikan bahwa gen-gen dalam linatan metabolisme trehalose berevolusi untuk memenuhi fungsi sebagai molekul signal dari pada sebagai enzim yang aktif dalam katalisis reaksi (O'Hara, *et. al.*, 2013). Selanjutnya Autornya mengemukakan bahwa protein-protein tersebut berfungsi sebagai sensor

terhadap konsentrasi T6P dalam sel yang sekaligus menunjukkan ketersediaan sumber energy dalam sel. Interaksi antara protein-protein tersebut dengan *TPS1* yang fungsional didemonstrasikan terjadi pada padi (Zang, *et. al.*, 2011). Selanjutnya protein-protein tersebut diperkirakan terlibat dalam regulasi dan pemrograman transkripsi dan translasi (Sato-Nagasawa, *et. al.*, 2006).

### ***T6P berperan dalam sel sanesen***

T6P diperlukan untuk terjadinya sanesensi, yakni dengan terekspresinya gen-gen untuk anabolisme, termasuk untuk protein sintesis. T6P meningkat pada daun yang telah tua, hal ini diduga bahwa keberadaan T6P pada daun tua tersebut adalah untuk remobilisasi nitrogen dari daun tua ke jaringan yang sedang tumbuh (Wingler, *et. al.*, 2012). Transgenik

Arabidopsis yang mengekspresikan gen *OtsA* mengalami sanesensi lebih cepat dari pada tipe liarnya. Sedang transgenik yang mengekspresikan gen *OtsB* lebih lambat untuk terjadinya sanesensi. Hal ini sejalan dengan T6P meningkat pada daun menjelang sanesence (Wingler, *et. al.*, 2012). Marker gen untuk sanesensi juga meningkat pada transgenik *OtsA*, dan menurun pada transgenik *OtsB*. Demikian juga untuk kandungan klorofil, Transgenik *OtsB* lebih pucat dibanding transgenik *OtsA*, tapi lebih lama hijau dibanding *OtsA*. Disamping itu, penambahan gula tanpa penambahan sumber nitrogen mempercepat sanesensi. Padahal transgenik *OtsB* megakumulasi gula lebih banyak dibanding dibanding tipe liar dan *OtsA*, namun *OtsB* mengalami sanesensi lebih lambat, dengan demikian, gula saja belum cukup untuk sanesensi, T6P diperlukan.



Gambar ini diambil dari O'Hara, *et. al.*, (2013). Ilustrasi peran T6P pada tanaman pangan ditunjukkan pada tanaman hipotetis. Konsentrasi T6P meningkat dengan meningkatnya sukrosa, hampir semua proses yang dipengaruhi oleh T6P (yang dicetak miring) terjadi melalui penghambatan T6P terhadap SnRK1, lebih lengkap dijelaskan dalam teks.



***Peran trehalose menghadapi stress tanaman biotik dan abiotik stress.***

Tanaman yang mengakumulasi trehalose dalam jumlah tinggi anatara lain lumut, paku-pakuan dan tanaman yang terdaptasikan dengan iklim gurun antara lain *Selaginella lepidophylla*, *myrothamnus flabiofolia* (Elbein, *et. al.*, 2003). Pada tanaman tingkat tinggi seperti tanaman seperti tanaman budidaya, trehalose disintesis dalam jumlah yang hampir tidak terdeteksi (Schluepmann, *et. al.*, 2003), untuk itu para terdahulu mencoba mengekspreikan gen penyandi enzim biosintesis trehalose untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stress. Terbukti bahwa tanaman transgenik yang dihasilkan lebih tahan terhadap beberapa macam stress, terutama kekeringan, garam dan temperature pada padi (Garg, *et. al.*, 2002, Jang, *et. al.*, 2003, Lee, *et. al.*, 2013). Pada anggur terhadap suhu dingin (Fernandez, *et. al.*, 2012). Sebagian dari daftar yang panjang tanaman transgenik membawa gen dalam family tersebut terbukti meningkatkan ketahanan terhadap stres suhu, garam misalnya pada padi (Garg, *et. al.*, 2002, Jang, *et. al.*, 2003; Lee, *et. al.*, 2013); pada tembakau (Karim *et. al.*, 2007); *Arabidopsis* (Miranda, *et. al.*, 2007) dan pada *chatarantus roseus* (Chang, *et. al.*, 2014), masih banyak lagi yang tidak bisa di daftar disini. Trehalose juga berperan dalam merespon stress terhadap biotik stres, misalnya green apid pada tanaman tomat (Singh, *et. al.*, 2011) dan pada tanaman gandum dari powdery mildew (Reignault, *et. al.*, 2000; Tayeh, *et. al.*, 2014).

Kandungan trehalose pada tanaman transgenik tersebut tidak mengakumulasi trehalose dalam jumlah yang significant. Hal ini menunjukkan bahwa meningkatnya ketahanan tanaman transgenik terhadap beberapa stress tersebut bukan karena peran trehalose sebagai osmotik adjustment untuk ketahanan tanaman terhadap stress atau

sebagai cadangan energi (Avonce, *et. al.*, 2006; Fernandez *et. al.*, 2010). Didepan sudah disiskusikan bahwa T6P/SnRK memegang peran central dalam integrasi antara sumber karbon tersedia dengan penggunaannya yang di disinkronkan dengan pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui reprogramming ekspresi gen-gen target, dan disesuaikan dengan kebutuhan spesifik saat tertentu. T6P/SnRK1 signaling ini juga mengintegrasikan antara sumber karbon dengan respon terhadap lingkungan, baik biotik maupun abiotik. Misalnya Pada gandum tanpa perlakuan (Tayeh, *et. al.*, 2014) melaporkan bahwa aplikasi trehalose meningkatkan ekspresi gen penyandi pathogen related protein; chitinase (*chi*<sub>1</sub>, *chi*<sub>2</sub>, dan precursor *ch*<sub>4</sub>); oxalate oxidase (*OXO*) dan lipoxxygenase (*lox*). Sedang aplikasi terhadap tanaman gandum yang terinfeksi oleh Powdery mildew, Autor menyebutkan bahwa, gen yang secara spesifik berubah tingkat ekspresinya akibat aplikasi trehalose adalah precursor *Chi*<sub>4</sub> dan *lox*, dibarengan dengan meningkatnya aktivitas LOX. Pertumbuhan jamur terbukti terhenti, menunjukan bahwa trehalose berperan dalam pertahanan tanaman (Tayeh, *et. al.*, 2014). Penyemprotan trehalose 0.1-15 gr/L trehalose sebelum diinokulasi dengan powdery mildew menurunkan 60% infeksi jamur tersebut (Muchembled, *et. al.*, 2006). Masih pada tanaman gandum, penyemprotan dengan 15% trehalose mengurangi erajad infeksi sebanyak 50 dan 95% masing-masing bila 1 kali atau 3 kali semprot. Ketahanan ini terjadi karena trehalose meningkatkan aktivitas polyamine lyase (PAL) dan peroxidase (PO) serta meningkatkan penebalan dinding sel (Reignault, *et. al.*, 2000).

## KESIMPULAN

Trehalose berperan sepanjang masa kehidupan tanaman sejak pembentukan embrio hingga sanesensi baik untuk program pertumbuhan dan perkembangan tanaman maupun untuk merespon dan bertahan terhadap stress dari lingkungan dengan cara mengintegrasikan ketersediaan sumber energy dan penggunaannya serta melalui pemrograman ekspresi gen-gen target atau meregulasi aktivitas protein target. Pemahaman yang mendalam tentang metabolisme trehalose perlu dikuasai untuk dapat memanfaatkan lintasan ini untuk keperluan manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Avonce, N., Leyman, B., Mascorro-Gallardo, J.O., Van Dijck, P., Thevelein, J.M., and Iturriaga, G. (2004). The Arabidopsistrehalose-6-P synthase AtTPS1gene is a regulator of glucose, bscisic acid and stress signaling. *Plant Physiol.* 136: 3649–3659.
- Avonce, N., Mendoza-Vargas, A., Morett, E., and Iturriaga, G. (2006). Insights on the evolution of trehalose biosynthesis. *BMC Evol. Biol.* 6: 109
- Baena-González, E., and Sheen, J. (2008). Convergent energy and stress signaling. *Trends Plant Sci.* 13: 474–482.
- Baena-González, E., Rolland, F., Thevelein, J.M., and Sheen, J. (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signaling. *Nature.* 448: 938–942.
- Benaroudj, N., Lee, D.H., Goldberg AL. (2001)Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. *J Biol Chem.*;276:24261–24267.
- Cabib, E., and Leloir, L.F. (1958). The biosynthesis of trehalose phosphate. *J. Biol. Chem.* 231: 259–275.
- Chang, B., Yang, L., Cong, W., Zu, Y., Tang, Z. (2014). The improved resistance to high salinity induced by trehalose is associated with ionic regulation and osmotic adjustment in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiology and Biochemistry : PPB / Societe Francaise de Physiologie Vegetale*, 77:140-148.
- Chary S. N., Hicks G. R., Choi Y. G., Carter D., Raikhel N. V. (2008). Trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase regulates cell shape and plant architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 146 97–107.
- Crowe, J.H. (2008). Trehalose and anhydrobiosis: The early work of J. S. Clegg. *J Exp Biol.* 2008: 2899–2900.
- Crozet, P., Margalha, Ana Confraria, Rodrigues, A., Martinho, C., Adamo M., Elias A.C. and Elena Baena-González (2014). Mechanisms of regulation of SNF1/AMPK/SnRK1 protein kinases. *Front. Plant Sci.* 20(5):190
- Debast, S., Nunes-Nesi, A., Hajirezaei, M.R., Hofmann, J., Sonnewald, u., Fernie, A.R., and Börnke, F. (2011). Altering trehalose-6-phosphate content in transgenic potato tubers affects tuber growth and alters responsiveness to hormones during sprouting. *Plant Physiol.* 156: 1754–1771.
- Delatte, T.L., Sedijani, P., Kondou, Y., Matsui, M., de Jong, G.J., Somsen, G.W., Wiese-Klinkenberg, A.,

- Primavesi, L.F., Paul, M.J., and Schluepmann, H.(2011). Growth arrest by trehalose-6-phosphate: an astonishing case of primary metabolite control over growth by way of the SnRK1 signaling pathway. *Plant Physiol.* 157: 160–174.
- Eastmond, P.J., van Dijken, A.J., Spielman, M., Kerr, A., Tissier, A.F., Dickinson, H.G., Jones, J.D., Smeekens, S.C., and Graham, I.A.(2002). Trehalose-6-phosphate synthase 1, which catalyses the first step in trehalose synthesis, is essential for Arabidopsis embryo maturation. *Plant J.* 29: 225–235.
- Elbein A.D., Y.T.Pa, Pastuszak I. and Carroll D. (2003). New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology* 13 (4): 17-27.
- Eveland, A. L., Goldshmidt, A., Pautler, M., Morohashi, K., Liseron-Monfils, C., Lewis, M. W., et al. (2014). Regulatory modules controlling maize inflorescence architecture. *Genome Res.* doi: 10.1101/gr.166397.113 [Epub ahead of print].
- Eveland, A.L., Satoh-Nagasawa, n., Goldshmidt, A., Meyer, S., Beatty, M., Sakai, H., Ware, D., and Jackson, D.(2010). Digital gene expression signatures for maize development. *Plant Physiol.* 154:1024–1039.
- Fernandez, O., Béthencourt, L., Quero, A., Sangwan, R.S., and Clément, C.(2010). Trehalose and plant stress responses: friend or foe? *Trends Plant Sci.* 15: 409–417.
- Fernandez, O., Vandesteene, L., Feil, R., Baillieul, F., Lunn, J.E., and Clément, C. (2012). Trehalose metabolism is activated upon chilling in grapevine and might participate in Burkholderia phytofirmans-induced chilling tolerance. *Planta.* 236: 355–369.
- Finkelstein R. R., Gibson S. I. (2002). ABA and sugar interactions regulating development: cross-talk or voices in a crowd? *Curr. Opin. Plant Biol.* 5 26–3210.
- Gómez L. D., Baud S., Gilday A., Li Y., Graham I. A. (2006)a. Delayed embryo development in the ARABIDOPSIS TREHALOSE-6-PHOSPHATE SYNTHASE 1 mutant is associated with altered cell wall structure, decreased cell division and starch accumulation. *Plant J.* 46: 69–84.
- Gómez, L. D., Baud, S., Gilday, A., Li, Y., and Graham, I. A. (2006)b. Delayed embryo development in the ARABIDOPSIS TREHALOSE-6-PHOSPHATE SYNTHASE 1 mutant is associated with altered cell wall structure, decreased cell division and starch accumulation. *Plant J.* 46: 69–84.
- Gómez, L.D., Gilday, A., Feil, R., Lunn, J.E., and Graham, I.A.(2010). AtTPS1-mediated trehalose 6-phosphate synthesis is essential for embryogenic and vegetative growth and responsiveness to ABA in germinating seeds and stomatal guard cells. *Plant J.* 64: 1–13.
- Hagen, S.J., Hofrichter, J., and Eaton W.A. (1995). Protein reaction kinetic in a room-temperature glass. *Science* 269 (5226): 959-962.
- Higashiyama, T. (2002). Novel function and application of trehalose. *Pure Appl. Chem.* 74(7): 1263-1269.
- Jang IC, Oh SJ, Seo JS, Choi WB, Song SI, Kim CH, Kim YS, Seo HS, Choi

- YD, Nahm BH (2003) Expression of a bifunctional fusion of the *Escherichia coli* genes for trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatase in transgenic rice plants increases trehalose accumulation and abiotic stress tolerance without stunting growth. *Plant Physiol.* 131: 516–52.
- Karim, S, Aronsson H, Ericson H, Pirhonen M, Leyman B, Welin B, Mantyla E, Palva ET, Van Dijck P, Holmstrom KO (2008) Improved drought tolerance without undesired side effects in transgenic plants producing trehalose. *Plant Mol Biol.* 31:671-684.
- Klinghammer, M., and Tenhaken, R.(2007). Genome-wide analysis of the UDP-glucose dehydrogenase gene family in Arabidopsis, a key enzyme for matrix polysaccharides in cell walls. *J. Exp. Bot.* 58: 3609–3621.
- Kobayashi Y., Murata M., Minami H., Yamamoto S., Kagaya Y., Hobo T., et al. (2005). Absciscic acid-activated SNRK2 protein kinases function in the gene regulation pathway of ABA signal transduction by phosphorylating ABA response element binding factors. *Plant J.* 44: 939–949.
- Kolbe, A., Tiessen, A., Schluepmann, H., Paul, M.J., Ulrich, S., and Geigenberger, P.(2005). Trehalose 6-phosphate regulates starch synthesis via posttranslational redox activation of ADPglucose pyrophosphorylase. *Proc. Natl Acad. Sci.* 102: 11118–11123
- Laurie, S., McKibbin, R.S., and Halford, n.G. (2003). Antisense SNF1-related (SnRK1) protein kinase gene represses transient activity of an -amylase (-Amy2) gene promoter in cultured wheat embryos. *J. Exp. Bot.* 54: 739–747.
- Lee, Y.A., Kim,Y.K., Kim, B.J., Kim, B.K., Kim, K.J., Auh, J.H., Schmidt J.A., Ryu B.Y (2013). Cryopreservation in Trehalose Preserves Functional Capacity of Murine Spermatogonial Stem Cells. *Cell* 9: 5–19.
- Lefort, R., Bordat, P. Cesaro, and A. Descamps, M. (2007). Exploring the conformational energy landscape of glassy disaccharides by cross polarization magic angle spinning <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance and numerical simulations. II. Enhanced molecular flexibility in amorphous trehalose. *J. Chem. Phys.* 126: 014511-0145119.
- Lenne, T., Bryant, G., Holcomb, R., and Koster, K.L. (2007). How much solute is needed to inhibit the fluid to gel membrane phase transition at hydration? *Biochem. Biophys. Acta.* 1768: 1019-1022.
- Lu, C. A., Lin, C. C., Lee K. W., Chen, J. L., Huan,g L. F., Ho, S. L. (2007). The SnRK1A protein kinase plays a key role in sugar signaling during germination and seedling growth of rice. *Plant Cell* 19 2484–2499.
- Lunn, J.E., Feil, R., Hendriks, J.H.M., Gibon, Y., Morcuende, R., Osuna, D., Scheible, W.-R., Carillo, P., Hajirezaei, M.-R., and Stitt, M. (2006). Sugar-induced increases in trehalose 6-phosphate are correlated with redox activation of ADPglucose pyrophosphorylase and higher rates of starch synthesis in Arabidopsis thaliana. *Biochem. J.* 397: 139–148.
- Magazù, S., Migliardo, F., Benedetto, A., La Torre, R., and Hennet, L. (2012).

- Bio-protective effects of homologous disaccharides on biological macromolecules. *Eur. Biophys. J.* 41: 361–367.
- Martínez-Barajas, E., Delatte, T., Schluepmann, H., de Jong, G.J., Somsen, G.W., Nunes, C., Primavesi, L.F., Coello, P., Mitchell, R.A.C., and Paul, M.J. (2011). Wheat grain development is characterized by remarkable trehalose 6-phosphate accumulation pregrain filling: tissue distribution and relationship to SNF1-related protein kinase1 activity. *Plant Physiol.* 156: 373–381.
- Miranda, J. A., Avonce, N., Suarez, R., Thevelein, J. M., Van Dijck, P., and Iturriaga, G. (2007). A bifunctional TPS-TPP enzyme from yeast confers tolerance to multiple and extreme abiotic stress conditions. *Planta* 226: 1411–1421.
- Muchembled, J., Loune's-Hadj Sahraoui A, GrandmouginFerjani A, Sancholle M. 2006. Changes in lipid composition of *Blumeria graminis* sp. *tritici* conidia produced on wheat leaves treated with heptanoyl salicylic acid. *Phytochemistry* 67: 1104–1109
- O'Hara, L. E., Paul, M. J., and Wingler, A. (2013). How do sugars regulate plant growth and development? New insight into the role of trehalose-6-phosphate. *Mol. Plant* 6: 261–274.
- Patist, A. and Zoerb, H. (2005). Preservation mechanism of trehalose in food and Biosystem. *Science Direct.* 40: 107-113.
- Pereira, S.C., Lins, R.D., Chandrasekhar, I., Freitas, L.C.G. and Hynenberger, P.H. ((2004). Interaction of the disaccharide trehalose with a phospholipid bilayers: A molecular Dynamic Study. *Biophysic J.* 86: 2273-2285.
- Ramo, M., De Smet I., Vandesteene L., Naudts M., Leyman B., Van Dijck P., Rolland F., Beeckman T., Thevelein J. M. (2009). Extensive expression regulation and lack of heterologous enzymatic activity of the class II trehalose metabolism proteins from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 32: 1015–1032.
- Reignault, P., Cogan, A., Muchembled, J., Sahraoui, A.L.H., Durand, R., and Sancholle, M. (2001). Trehalose induces resistance to powdery mildew in wheat. *New Phytol.* 149: 519–529.
- Satoh-Nagasawa N., Nagasawa N., Malcomber S., Sakai H., Jackson D. (2006). A trehalose metabolic enzyme controls inflorescence architecture in maize. *Nature* 441: 227–230 10.
- Schluepmann, H., Pellny, T., van Dijken, A., Smeekens, S., and Paul, M. (2003). Trehalose 6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl Acad. Sci.* 100: 6849–6854.
- Schluepmann, H., van Dijken, A., Aghdasi, M., Wobbes, B., Paul, M., and Smeekens, S. (2004). Trehalose mediated growth inhibition of *Arabidopsis* seedlings is due to trehalose-6-phosphate accumulation. *Plant Physiol.* 135: 879–890.
- Schluepmann, H., Berke, L. and Gabino F. and Sanchez-Perez (2012). Metabolism control over growth: a case for trehalose-6-phosphate in

- plants. *J. Exp. Bot.* 63 (9): 3379-3390.
- Shinohara, M.L., Correa, A., Bell-Pedersen, D., Dunlap, J.C., Loros, J.J. (2002). Neurospora clock-controlled gene 9 (ccg-9) encodes trehalose synthase: circadian regulation of stress responses and development. *Eukaryot Cell* 1(1):33-43.
- Silje, H.W., Palman JWG, ter Schure EG, (1999). Function of trehalose and glycogen in cell cycle progression and cell viability in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 181: 396–400.
- Singh, V., Louis, J., Ayre, B.G., Reese, J.C., Pegadaraju, V., Shah, J. (2011). TREHALOSE PHOSPHATE SYNTHASE11-dependent trehalose metabolism promotes *Arabidopsis thaliana* defense against the phloem-feeding insect *Myzus persicae*. *Plant J.* 67(1):94-104.
- Skylar, A., Sung, F., Hong, F., Chory, J., and Wu, X. (2011). Metabolic sugar signal promotes *Arabidopsis* meristematic proliferation via G2. *Dev. Bio.* 351: 82-89.
- Smeekens, S., Ma J., Rolland F. (2010). Sugar signals and molecular networks controlling plant growth. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13 177–191
- Tayeh, C., Randoux, B., Vincent, D., Bourdon, N., and Reignault P. (2014). Exogenous Trehalose Induces defenses in Wheat Before and During a Biotic Stress Caused by Powdery Mildew. *Genetics and Resistance.* 104(3): 293-305
- Terterink, C. and Munnik, T. (2011). Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plant plants. *J. Exp. Bot.* 62: 2349-2361.
- Tsai, A.Y.L. and Gazzarrini S. (2014). Trehalose-6-phosphate and SnRK1 kinases in plant development and signaling: the emerging picture. *doi: 10.3389/fpls.2014.00119*
- van Dijken, A.J.H., Schluepmann, H., and Smeekens, S.C.M. (2004). *Arabidopsis* trehalose-6-phosphate synthase 1 is essential for normal vegetative growth and transition to flowering. *Plant Physiol.* 135, 969–977.
- Wahl, V., Ponnu J., Schlereth A., Arrivault S., Langenecker T., Franke A. (2013). Regulation of flowering by trehalose-6-phosphate signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Science* 339: 704–707
- Wang, L. and Yong-Ling R. (2013). Regulation of cell division and expansion by sugar and auxin signaling. *Front Plant Sci.* 4: 163.
- Wingler, A., Delatte, T.L., O'Hara, L.E., Primavesi, L.F., Jhurrea, D., Paul, M.J., and Schluepmann, H. (2012). Trehalose 6-phosphate is required for the onset of leaf senescence associated with high carbon availability. *Plant Physiol.* 158: 1241–1251.
- Wu, L., and Birch, R. G. (2010). Physiological basis for enhanced sucrose accumulation in an engineered sugarcane cell line. *Plant Biol.* 37: 1161 –1174.
- Zang B., Li H., Li W., Deng X. W., Wang X. (2011). Analysis of trehalose-6-phosphate synthase (TPS) gene family suggests the formation of TPS complexes in rice. *Plant Mol. Biol.* 76: 507–522.
- Zentella, R., Mascorro-Gallardo, J.O., Van Dijk, P., Folch-Mallol, J., Bonini, B., VanVaeck, C., Gaxiola, R.,

Covarrubias, A.A., NietoSotelo, J.,  
Thevelein, J.M., and Iturriaga, G.  
(1999) A *Selaginella lepidophylla*  
trehalose-6-phosphate synthase

complements growth and stress-  
tolerance defects in a yeast *tps1*  
mutant. *Plant Physiol.* 119: 1473-  
1482.